

DIE WIRKUNG VON THIOPENTAL AUF DEN
ENERGIESTOFFWECHSEL DES ISOLIERTEN RATTENHIRNS
UNTER DEM EINFLUSS VON
VERSCHIEDENEN GLUCOSEKONZENTRATIONEN
IM PERFUSIONSMEDIUM

HANS HEIN

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554413_0094

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Johannes Gutenberg - Universität Mainz

DIE WIRKUNG VON THIOPENTAL AUF DEN ENERGIESTOFF -
WECHSEL DES ISOLIERTEN RATTENHIRNS UNTER DEM EIN-
FLUSS VON VERSCHIEDENEN GLUCOSEKONZENTRATIONEN IM
PERFUSIONSMEDIUM

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der Jo-
hannes Gutenberg-Universität Mainz, den Medizini-
schen Fachbereichen

vorgelegt von

H a n s H e i n

aus A l z e y

M a i n z

1975

Gesamtherstellung



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN

AM KAPELLCHEN 1 · RUF 0 6132 / 57 11



Fachbereichsdekan: Prof. Dr. P. Klein

Referent : Prof. Dr. Dr. J. Krieglstein

Korreferent : Prof. Dr. E. Jähnchen

Tag der mündlichen Prüfung: 17.12.1975

Meinen E L T E R N

in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. METHODIK	
2.1 Das isoliert perfundierte Rattenhirn	
2.1.1 Perfusionsapparatur	4
2.1.2 Präparation des isoliert per-	
fundierten Rattenhirns	9
2.1.3 Elektroencephalogramm (EEG)-	
Ableitung	11
2.1.4 Perfusionsmedium	12
2.1.5 Messungen während der Perfusion	15
2.2 Durchführung der Perfusionsversuche	
2.2.1 Orientierende Versuche	16
2.2.2 Hauptversuche	17
2.3 Extraktion der physiologischen Substanzen	
2.3.1 Aus dem Perfusionsmedium	18
2.3.2 Aus dem Gehirngewebe	18
2.4 Analytische Methoden	
2.4.1 Material	20
2.4.2 Enzymatische Bestimmungen	22
2.4.3 Auswertung	25
2.5 Statistische Auswertung	26
3. ERGEBNISSE	
3.1 EEG-Befunde	27
3.2 Veränderungen im Energiestoffwechsel	
des isolierten Rattenhirns	31

	Seite
4. DISKUSSION	55
5. ZUSAMMENFASSUNG	63
6. LITERATURVERZEICHNIS	66

1. EINLEITUNG

In zahlreichen Untersuchungen (BACHELARD, 1970) wurde gezeigt, daß die Glucose, die über den Blutweg bereitgestellt wird, die Hauptquelle der Energie für das Gehirn bildet. Der Stoffwechsel der Glucose und damit die Energiegewinnung geschieht hauptsächlich über den EMBDEN-MEYERHOF-Abbauweg, den Citronensäurezyklus und die Atmungskette. Der Pentosephosphatzyklus spielt für die Energiegewinnung im Gehirn nur eine untergeordnete Rolle.

Von Narkotika, zum Beispiel von Barbituraten wie Phenobarbital und Thiopental, ist bekannt, daß sie den Gehirnstoffwechsel beeinflussen (siehe Übersicht von FINK u. HASCHKE, 1973). Durch in vivo - Untersuchungen an verschiedenen Laboratoriumstieren und Untersuchungen mit dem isolierten Gehirn sind deutliche Veränderungen im Energiestoffwechsel festgestellt worden (LOWRY et al., 1964; NILSSON u. SIESJÖ, 1970; KRIEGLSTEIN et al., 1972). Diese Veränderungen fanden sich bei den Konzentrationen der Substrate und Metaboliten der Glykolyse sowie

bei den energiereichen Phosphaten. Es handelte sich meist um eine Erhöhung der Konzentrationen von energiereichen Verbindungen, insbesondere von Glykogen und Glucose, während die Konzentrationen von Pyruvat und Lactat nach Narkotika erniedrigt waren. Außerdem war eine Erhöhung der Konzentrationen von Kreatinphosphat und ATP zu beobachten. Insgesamt entstand der Eindruck, daß Narkotika zu einer Erhöhung der Energiereserven im Gehirn führten.

In vivo - Untersuchungen an narkotisierten Tieren zeigten, daß Narkotika eine Erhöhung des Glucose-spiegels im Blut hervorrufen können (BRUNNER et al., 1971). Mit diesem Anstieg der Glucosekonzentration im Blut könnte aber auch die Erhöhung der Glucosekonzentration im Gehirn in Zusammenhang stehen. Dadurch wird es schwierig zu beurteilen, wie ein Narkotikum direkt auf die Konzentration der Glucose im Gehirn wirkt.

Bislang konnte noch nicht ausgeschlossen werden, daß die Anhäufung von Energiereserven im Gehirn an der Entstehung einer Narkose ursächlich beteiligt ist.

Es erschien interessant die Frage zu prüfen, welche Einflüsse ein Narkotikum auf den Energiestoffwechsel des Gehirns ausübt, wenn durch eine Erhöhung der Glucosekonzentration im Blut eventuell die Möglichkeit gegeben ist, die Energielage des Gehirns zu verbessern.

Mit der in dieser Arbeit angewandten Untersuchungstechnik der Perfusion des isolierten Rattenhirns ist es möglich, die direkte Wirkung eines Pharmakons auf den Gehirnstoffwechsel festzustellen. Experimentell kann im Perfusionsmedium je nach Fragestellung eine bestimmte Glucosekonzentration gewählt werden. Im Gegensatz zu Untersuchungen am vollständigen Tierorganismus tritt bei dieser Methode keine Gegenregulation durch endokrine Mechanismen auf. Ebenfalls können keine Effekte durch Metaboliten der Arzneimittel auftreten, da die im Arzneimittelstoffwechsel aktiven Organe, wie zum Beispiel die Leber, ausgeschaltet sind. Beeinflussungen durch sekundäre periphere Effekte seitens des Pharmakons auf das kardiovaskuläre System, das respiratorische System oder das autonome Nervensystem werden vermieden.

Gegenüber in vitro - Untersuchungen mit Gehirnschnitten bietet die Perfusion des isolierten Rattenhirns den Vorteil, daß das untersuchte Organ intakt ist, und die Gehirnfunktion ständig durch EEG-Kontrolle überprüft werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, wie sich verschiedene Glucosekonzentrationen im Perfusionsmedium auf den Energiestoffwechsel des isolierten Rattenhirns auswirken, insbesondere ob ein größeres Glucoseangebot zu einer Erhöhung der Energiereserven führt. Weiterhin wurde geprüft, inwieweit ein im Perfusionsmedium gelöstes Narkotikum (in dieser Arbeit wurde Thiopental verwandt) bei verschiedenen Glucosekonzentrationen im Medium auf den Energiestoffwechsel des Gehirns wirkt.

2. METHODIK

2.1 Das isoliert perfundierte Rattenhirn

2.1.1 Perfusionsapparatur

Als Apparatur zur Perfusion des isolierten Rattenhirns wurde die von FLECK et al. (1972) beschriebene Apparatur I (Abb. 1) verwendet. Ihre Grund-

bestandteile sind ein Pumpsystem, das die Herzfunktion, und ein Oxygenator, der die Lungenfunktion übernimmt. Diese werden durch Filter und Ventile zweckmäßig ergänzt. Die Apparatur besteht weitgehend aus Glas. Die Schlauchverbindungen sind auf das Notwendigste beschränkt.

Als Oxygenator findet ein 30 cm langer, senkrecht montierter Kugelkühler Verwendung, dessen Mantel von 37°C warmem Wasser durchspült wird. Seinem oberen Ende sitzt ein Einlauftrichter auf, dessen 5 cm langer Auslaufstutzen so gekrümmt ist, daß ein aufgesetztes und entsprechend zugeschnittenes Stückchen Polyvinylschlauch genau der Wandung der ersten Kugel des Kühlers anliegt. Durch einen Elektromotor angetrieben, rotiert der Auslaufstutzen um seine Längsachse und verteilt dadurch das Perfusionsmedium, das passiv der Schwerkraft folgend die gesamte Oberfläche des Kugelkühlers benetzt. Dadurch ist die Voraussetzung für die Äquilibration des Perfusionsmediums mit Carbogen (95% O₂ + 5% CO₂) geschaffen, das zur Anfeuchtung durch eine mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllte Waschflasche geleitet wird.

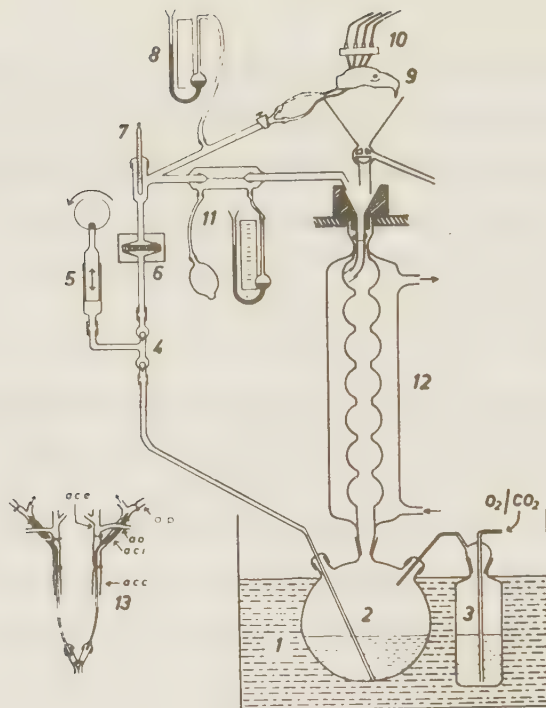


Abbildung 1: Perfusionsapparatur I (FLECK et al., 1972)

- | | |
|--------|--|
| 1 | Wasserbad |
| 2 | Vorratsgefäß für das Perfusionsmedium |
| 3 | Waschflasche für Carbogen mit physiologischer Kochsalzlösung |
| 4 u. 5 | Pumpe mit Ventil |
| 6 | Filter |
| 7 | Thermometer |
| 8 | Manometer zur Kontrolle des Perfusionsdrucks |
| 9 | Rattenschädel |
| 10 | Elektroden, die auf dem Schädeldach (Parietalregion) aufsitzen |
| 11 | Starlingwiderstand mit Manometer |
| 12 | Oxygenator |
| 13 | Schematische Darstellung der Gefäße mit eingebundenen Kathetern: a.c.c. = Arteria carotis communis, a.c.i. = Arteria carotis interna, a.c.e. = Arteria carotis externa, a.o. = Arteria occipitalis, a.p. = Arteria pterygopalatina |

Das oxygenierte Medium sammelt sich in einem 250 ml Rundkolben (Vorratsgefäß), der ebenso wie die Waschflasche in ein 37°C warmes Wasserbad eintaucht.

Eine Kolbenpumpe, deren Ganzglasspritze durch einen stufenlos regelbaren Elektromotor (Laborrührer Type RZR, Heidolph Elektro KG, Kelheim) mittels Exzentrerscheibe angetrieben wird, saugt vom tiefsten Punkt des Sammelkolbens das oxygenierte und temperierte Medium aus dem Vorratsgefäß und treibt es durch ein Ventil. Die Pumpstätigkeit und das Ventilspiel bewirken einen pulsierenden Strom des Mediums in Richtung Rattenhirn. Oberhalb des Ventils passiert das Medium ein Filter, das aus einer 4 mm dicken, kreisrunden Glasfritte mit einem Durchmesser von 26 mm besteht (Porosität G2, entsprechend einer Porenweite von 40 - 90 μ , Schott, Mainz). Dieses Filter befindet sich in einem Plexiglasgehäuse.

Hinter dem Filter ragt ein Thermometer in die Strombahn, das die Temperatur des Perfusionsmediums anzeigt. Hat das Medium das Thermometer passiert, wird es auf zwei Strombahnen verteilt. Die eine Bahn führt

zum isolierten Rattenhirn. An dieser wird kurz vor dem Ende des Glasröhrensystems der aktuelle Perfusionssdruck gemessen (Druckwandler: Type CEC-4-327-L-223 Bell & Howell Ltd, England; Elektromanometer MA 19: Hellige, Freiburg i.Br.). Zwei dünne PVC-Katheter stellen dann die Verbindung zum Rattenschädel her.

Die andere Strombahn zweigt als Kurzschlußverbindung zum Sammelgefäß ab. In diese ist ein Druckregulierungsmechanismus in Form eines Starlingschen Widerstandes zwischengeschaltet. Mittelbar durch diesen Widerstand wird der Druck im Leitungssystem, das zum Rattenhirn führt, auf einem bestimmten Niveau (um 110 mmHg) konstant gehalten.

Das Medium tropft nach Passage des isolierten Rattenhirns aus dem bei der Präparation angeschnittenen Venen in einen Auffangtrichter, der es wieder dem Oxygenator zuführt. Die Perfusionen werden somit rezirkulierend, d.h., in einem geschlossenen Kreislauf durchgeführt.

2.1.2 Präparation des isoliert perfundierten Rattenhirns

Für die Präparation wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten (200 - 300 g) verwendet, die bis zum Zeitpunkt des Experimentes freien Zugang zu Standard-Futter (Altromin®) und Leitungswasser hatten. Zur Narkose wurden 1,2 g/kg Urethan (Merck, Darmstadt) intraperitoneal injiziert. Die Präparation wurde in der von ANDJUS et al. (1967) beschriebenen Weise durchgeführt.

Auf einem Präparationstisch (Institutswerkstatt) wurde der Rattenschädel durch zwei in die äußeren Gehörgänge geschobene Stifte sowie eine Oberkieferhalterung besonders stabil fixiert, um ein Abrutschen der EEG-Elektroden (s.u.) zu vermeiden und ein ruhiges Präparieren zu gewährleisten.

Von einem medianen Halsschnitt aus erfolgte die Tracheotomie mit anschließender Intubation (3 - 4 cm langer PVC-Schlauch). Die Aa. thyreoideae wurden durch eine Ligatur hinter dem Kehlkopf unterbunden. Nach Freilegung der A. carotis communis und der Carotisgabel

wurde die A. carotis externa ober- und unterhalb des Abganges der A. occipitalis ligiert, da diese oft mit nur einer Ligatur nicht sicher unterbunden ist. Dem Verlauf der A. carotis interna folgend, wurde die A. pterygopalatina aufgesucht. Sie entspringt aus der A. carotis interna, kurz bevor diese in den knöchernen Schädel eintritt. Nach Injektion von $2,5 \cdot 10^{-2}$ g/kg Heparin (Vetren®) in eine Vena jugularis externa, wurde beidseits die A. pterygopalatina unterbunden.

Auf beiden Seiten wurden nun die Ligaturen zum Einbinden der Perfusionskatheter vorbereitet. Die A. carotis communis wurde dann zuerst proximal abgeklemmt und distal ligiert, um nach Einschneiden der Gefäßwand den mit Medium gefüllten Katheter einzuführen. Nach Entfernen der Klemme wurde dieser möglichst weit in die A. carotis communis bzw. die A. carotis interna vorgeschoben und fixiert. Eine schematische Darstellung der Gefäße mit eingebundenen Kathetern zeigt Abbildung 1.

Während der Katheterisierung der Carotiden ermöglichen die Aa. vertebrales eine ausreichende Blutversorgung

des Gehirns. Nach dem Beginn der Perfusion wurden die Halsmuskulatur und beide Vv. jugulares externae durchtrennt, um den Abfluß des Perfusionsmediums zu gewährleisten. In diesem Präparationsstadium wurde das Rattenhirn sowohl vom körpereigenen Blut (über die Aa. vertebrales) als auch vom Perfusionsmedium durchströmt. Als nächstes wurde in Höhe des 3. bis 4. Halswirbels eine Ligatur gelegt; somit war die körpereigene Blutversorgung unterbrochen. Mit einem kräftigen Scherenschlag wurde unterhalb dieser Ligatur der Rumpf vom fixierten Rattenschädel getrennt. Der Unterkiefer wurde später noch entfernt. Die Perfusionszeit wurde ab dem Zeitpunkt der Dekapitation gerechnet.

Das fertige Präparat bestand aus dem Schädel (ohne Unterkiefer) mit Inhalt, den 3 - 4 oberen Halswirbeln sowie Muskelresten, deren Blutversorgung durch die verschiedenen Ligaturen ausgeschaltet war.

2.1.3 Elektroencephalogramm (EEG)-Ableitung

Durch Entfernen von Fell, Unterhautgewebe und Periost wurde das Schädeldach freigelegt. Am frontalen und

occipitalen Ende des Scheitelbeins (Os parietale) wurden mit einem Zahnbohrer Vertiefungen in den Knochen gebohrt, um ein Abrutschen der Elektroden-spitzen zu verhindern.

Vor dem Aufsetzen der Elektroden wurde etwas Elektrodenpaste (Hellige, Freiburg i.Br.) auf die Vertiefungen getupft. Die Ableitungen erfolgten bipolar (Potentialdifferenzen zwischen frontalen und occipitalen Elektroden) von beiden Gehirnhälften. Das EEG wurde über ein Oszilloskop beobachtet und mit einem angeschlossenen Schreiber aufgezeichnet (EEG-Vorverstärker Nr. 19; Großbildoszilloskop OS 47; Registrier-teil Nr. 19; Hellige, Freiburg i.Br.).

2.1.4 Perfusionsmedium

Für einen Perfusionsversuch wurden 100 ml Perfusions-medium folgender Zusammensetzung vorbereitet:

Gewaschene, gepackte Humanerythrozyten	40 ml
Rinderserumalbumin (trocken, "reinst."); Beringwerke AG, Marburg/Lahn)	2 g
Krebs-Henseleit-Lösung (Stammlösung I) ad	100 ml

Aus den Universitätskliniken in Mainz (Blutbank) wurden menschliche Blutkonserven bezogen, die bereits als Erythrozytenkonzentrate vorlagen, da auf der Blutbank die Vollblutkonserven zur Gewinnung von Blutplasma verarbeitet werden. Zur Perfusion wurden nur solche Konserven verwendet, die nicht älter als 5 Wochen waren.

Die Humanerythrozyten wurden bei Zimmertemperatur zweimal in 1%-iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt und bei 2000 U/min. zentrifugiert (Zentrifuge: Heraeus-Christ, Osterode). Anschließend wurde der Eiweißgehalt im Überstand mit Nephro-Merckognost Teststreifen (Merck, Darmstadt) überprüft. War ein Eiweißgehalt von weniger als 100 mg/100 ml erreicht, wurde eine Waschung mit Krebs-Henseleit-Lösung (s.u.) vorgenommen. Danach wurden die sedimentierten Erythrozyten zur Bereitung des Perfusionsmediums verwendet.

Die Krebs-Henseleit-Lösung (KREBS u. HENSELEIT, 1932) wurde in zwei Stammlösungen angesetzt, von denen Stammlösung II längere Zeit bei 4°C aufbewahrt wurde.

Stammlösung I (1000 ml)

160 ml NaHCO_3 - Lösung (1,3 %-ig)

1,2 g, 1,5 g, 3,0 g bzw. 4,0 g Glucose

Stammlösung II ad 1000 ml

Stammlösung II

NaCl	- Lösung	(0,9 %)	0,154 M	100 Teile
KCl	- Lösung	(1,15%)	0,154 M	4 Teile
CaCl_2	- Lösung	(1,12%)	0,11 M	3 Teile
KH_2PO_4	- Lösung	(2,11%)	0,154 M	1 Teil
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	- Lösung	(3,82%)	0,154 M	1 Teil
				109 Teile

Je nach Versuchsreihe wurde die Krebs-Henseleit-Lösung mit verschiedenen Glucosekonzentrationen hergestellt (120 mg%, 150 mg%, 300 mg%, 400 mg% Glucose). Die im Medium gemessenen Glucosekonzentrationen betrugen 5 mM ($5,2 \pm 0,2$; $n=12$), 6,5 mM ($6,6 \pm 0,4$; $n=11$), 12 mM ($12,5 \pm 0,7$; $n=13$) und 15 mM ($15,5 \pm 0,3$; $n=12$). In Klammern sind der Mittelwert, der mittlere Fehler des Mittelwertes und die Anzahl der Versuche (n) angegeben.

Der mit der Mikrohämatokritzentrifuge (Heraeus-Christ, Osterode) bestimmte Hämatokrit lag dabei zwischen 25 und 32% ($27,9 \pm 0,2$; $n=48$). Das Medium zirkulierte vor Beginn der Perfusion 25 bis 45 min in der Apparatur und wurde dabei mit Carbogen (95% O_2 + 5% CO_2) begast. Es stellte sich ein pH-Wert von 7,4 ein.

2.1.5 Messungen während der Perfusion

Der während der Perfusion gewählte arterielle Druck lag in der Größenordnung von 100 bis 130 mm Hg, wobei die Blutdruckamplitude bei den einzelnen Perfusionen etwa 10 - 20 mm Hg groß war. Die Durchflußgeschwindigkeit des Perfusionsmediums durch das isolierte Gehirn betrug 3 - 6 ml/min. Innerhalb eines Perfusionsversuches blieb die Durchflußgeschwindigkeit weitgehend unverändert. Das Perfusionsmedium im Vorratskolben wurde auf $37^{\circ}C$ erwärmt. Die während der Perfusion mit einem Temperaturfühler im Rattenhirn gemessene Temperatur lag unter $30^{\circ}C$ (KRIEGLSTEIN et al., 1972).

Die Perfusionsdauer war auf 30 min festgesetzt und wurde vom Zeitpunkt der Dekapitation an gemessen (vollständige Unterbrechung des körpereigenen Kreislaufs). Die EEG-Ableitungen wurden nach 5, 10, 15, 20, 25 min und zum Ende der Perfusionszeit aufgezeichnet. Nur bei einer während der gesamten Perfusionszeit gleichbleibenden oder allenfalls schwach abnehmenden elektrischen Aktivität wurde das isolierte Gehirn, während es von der Perfusionsapparatur weiter mit Medium versorgt wurde, durch Eintauchen in flüssigen Stickstoff eingefroren. Bis zum Zeitpunkt der weiteren Aufarbeitung verblieb das isolierte Gehirn in flüssigem Stickstoff.

2.2 Durchführung der Perfusionsversuche

2.2.1 Orientierende Versuche

Die bisherigen Perfusionen eines isolierten Rattenhirns wurden unter Verwendung von Rindererythrozyten durchgeführt. In den orientierenden Versuchen war zunächst zu klären, ob mit Humanerythrozyten genügend lange Perfusionszeiten (für die in

dieser Arbeit durchgeführten Versuche 30 min) zu erzielen waren. Bei Langzeitversuchen waren dabei Perfusionszeiten von 90 min erreicht worden. Humanerythrozyten konnten somit zur Perfusion des isolierten Rattenhirns verwendet werden.

2.2.2 Hauptversuche

Versuchsreihen bestehend aus 6 - 7 Einzelversuchen wurden durchgeführt mit 4 verschiedenen Glucosekonzentrationen im Medium. Dabei wurde bei jeder Glucosekonzentration je eine Serie von Versuchen ohne Arzneimittelzusatz zum Medium (Kontrollen) und eine mit Thiopental (Promonta, Hamburg) durchgeführt.

Versuchsreihe (Kontrollen)	I	II	III	IV
Glucose im Medium	5 mM	6,5 mM	12 mM	15 mM

Versuchsreihe	V	VI	VII	VIII
Thiopental	0,15 mM	0,15 mM	0,15 mM	0,15 mM
Glucose im Medium	5 mM	6,5 mM	12 mM	15 mM

2.3 Extraktion der physiologischen Substanzen

2.3.1 Aus dem Perfusionsmedium

Vor (Glucose A) und direkt nach Ablauf einer Perfusion (Glucose B) wurde aus dem Medium eine Probe entnommen zur Bestimmung der Glucosekonzentration. Zur Enteiweißung wurden die Proben mit eiskalter Perchlorsäure (HClO_4) versetzt. Die Einzelwerte sind in den Tabellen 10 und 11 aufgeführt.

Vorschrift für die Bereitung der Proben:

0,2 ml Medium wurden in 2 ml 0,3 N Perchlorsäure (eiskalt) gemischt und 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert; der Überstand wurde dekantiert und bis zur weiteren Aufarbeitung in die Tiefkühltruhe gestellt.

2.3.2 Aus dem Gehirngewebe

Die Aufarbeitung der in flüssigem Stickstoff aufbewahrten Gehirne erfolgte in einer Kühlkammer bei einer Temperatur von - 5 bis 0°C.

Nach möglichst schneller Entnahme von Großhirn, Kleinhirn und Teilen des Hirnstammes aus dem aufgespaltenen Rattenschädel wurde das Gehirn in einem mit flüssigem Stickstoff gekühlten Porzellanmörser mit einem Pistill zu feinem Pulver zerrieben. Anschließend wurde das tiefgefrorene Gehirnpulver (ca. 1 - 1,5 g) auf einem vorgekühlten Wägepapier gewogen und in einem Zentrifugenglas mit der zehnfachen Menge eiskalter 0,6 N Perchlorsäure im Eisbad enteweißt. Danach wurde die Suspension mit einem Ultra-Turrax (Janke und Kunkel KG, Staufen i.Br.) eine Minute lang homogenisiert; 0,5 ml Homogenat wurde zur Glykogenbestimmung entnommen. Der Rest des Homogenats wurde anschließend 15 min lang bei 2000 x g und 0°C zentrifugiert. Der Überstand wurde solange mit 5 M Kaliumcarbonatlösung versetzt, bis ein pH-Wert von pH 7 gemessen werden konnte (Glaselektrode: Schott, Mainz; Digitalmeter Digi 610: WTW, Weilheim). Um eine vollständige Fällung des Kaliumperchlorats zu erzielen, wurde der neutralisierte Extrakt eine Stunde im Eisbad belassen und dann über eine Glasfritte mit der Porosität G4 (Schott, Mainz) abgesaugt.

Der filtrierte und in der Regel wasserklare Extrakt wurde sofort zur enzymatischen Analyse der Substrate und Metaboliten des Energiestoffwechsels verwendet.

2.4 Analytische Methoden

2.4.1 Material

Die folgenden Enzyme, Coenzyme und Substrate wurden von Boehringer (Mannheim) bezogen:

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, G6P - DH
(D - Glucose - 6 - phosphate: NADP oxidoreductase,
EC 1.1.1.49)

Hexokinase, HK (ATP: D - Hexose - 6 - phosphotransferase, EC 2.7.1.1)

Creatin - Kinase, CK (ATP: creatine phosphotransferase, EC 2.7.3.2)

Myokinase, MK (ATP: AMP phosphotransferase,
EC 2.7.4.3)

Pyruvat - Kinase, PK (ATP: Pyruvate phosphotransferase, EC 2.7.1.40)

Lactat - Dehydrogenase LDH (L - Lactate: β -NAD oxidoreductase, EC 1.1.1.27)

Amylo α - 1. 4 - α - 1. 6-glucosidase, AGS (α -1, 4 - α - 1, 6 - Glucan glucohydrolase, EC 3.2.1.-)

Phosphoglucose - Isomerase, PGI (D - Glucose - 6 - phosphate ketol - isomerase, EC 5.3.1.9)

Glutamat - Dehydrogenase, GLDH (L - Glutamate : NAD(P) Oxidoreductase (deaminating), EC 1.4.1.3)

Adenosin - 5' - triphosphat, ATP

Adenosin - 5' - diphosphat, ADP

Nicotinamid - adenin - dinucleotidphosphat, NADP

β - Nicotinamid - adenin - dinucleotid (oxidierte Form), NAD

β - Nicotinamid - adenin - dinucleotid (reduzierte Form), NADH

Phosphoenol - pyruvat , PEP

α - Ketoglutarsäure

Alle weiteren Chemikalien wurden in "pro analysi" - Qualität verwendet.

2.4.2 Enzymatische Bestimmungen

Die Konzentration der folgenden Substrate und Metaboliten des Energiestoffwechsels wurde enzymatisch bestimmt:

Kreatinphosphat (Kreatin-P)

Adenosintriphosphat (ATP)

Adenosin - 5' - diphosphat (ADP)

Adenosin - 5' - monophosphat (AMP)

Glykogen

D - Glucose (Glucose)

D - Glucose - 6 - phosphat (Glucose-6-P)

D - Fructose - 6 - phosphat (Fructose-6-P)

Pyruvat (Pyruvat)

L - (+) - Lactat (Lactat)

α - Ketoglutarat (α - KG)

L - Glutamat (Glutamat)

Ammoniak (Ammoniak)

Alle Vorschriften zur Bestimmung der einzelnen Substanzen wurden den "Methoden der enzymatischen Analyse" (BERGMEYER, 1970) entnommen. Die bei den einzelnen Bestimmung verwendeten Enzyme, Coenzyme und sonstigen Reagenzien sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Verwendete Enzyme, Coenzyme und Reagenzien zur enzymatischen Festimmung der einzelnen Substrate und Metaboliten.

Abkürzungen: TRA = Triäthanolamin, Tris = Tris - hydroxymethyl - aminomethan, alle weiteren Abkürzungen sind unter dem Abschnitt Material angegeben.

Gemessene Substrate	Puffer	Enzyme	Coenzyme, weitere Zusätze
Kreatin - P, ATP	TRA pH 7,5	HK, G6P-DH, CK	NADP, Glucose, ADP, $MgCl_2$
ADP, AMP	TRA pH 7,5	LDH, PK, MK	NADH, PEP, $MgSO_4$, KCl
Glykogen	Acetat pH 4,8 TRA pH 7,5	AGS G6P-DH, HK	NADP, ATP, $MgSO_4$
Glucose	TRA pH 7,5	G6P-DH, HK	NADP, ATP, $MgSO_4$
Glucose - 6 - P	TRA pH 7,6	G6P-DH, PGI	NADH, $MgCl_2$
Fructose - 6 - P	Hydrazin/Glycin pH 9,5	LDH	NAD, EDTA
Lactat	TRA pH 7,6	LDH	NADH, EDTA
Pyruvat	TRA pH 7,6	GLDH	NADH
α - Ketoglutarat	Hydrazin/Glycin pH 9,5	GLDH	NAD
Glutamat	Tris pH 8,0	GLDH	NADH, α - Ketoglutarat
Ammoniak			

Alle Bestimmungen beruhen auf dem 1936 von OTTO WARBURG eingeführten optischen Test, der auf der Tatsache basiert, daß reduzierte Nicotinamid - adenin - dinucleotide (NADH, NADPH) Licht mit einem Maximum bei 340 nm absorbieren, während die oxidierten Formen (NAD, NADP) keine Absorption zwischen 300 und 400 nm zeigen. Durch Registrierung der Extinktionszunahme bzw. - abnahme können alle Dehydrogenase-Reaktionen, bei denen entweder NAD oder NADP reduziert oder NADH oder NADPH oxidiert werden, gemessen werden. Aus der Extinktionsdifferenz zwischen Anfang und Ende der enzymatischen Reaktion kann auf die Menge und damit auf die Konzentration des umgesetzten Substrates geschlossen werden.

Die enzymatischen Bestimmungen wurden in 1 cm und 5 cm Küvetten bei 340 nm und 25°C durchgeführt, unter Verwendung eines Zeiss PMQ II Spektralphotometers mit Spalt- und Küvettenautomatik (Zeiss, Oberkochen) und angeschlossenem Servogor-Schreiber (Metrawatt, Nürnberg). Bei jeder Messung wurden neben drei Proben ein Leerwert und ein Standard zur Überwachung des Reaktionsablaufs mitgeführt.

Zur Berechnung der Konzentrationen der enzymop-
tisch bestimmten Substanzen wurde für NADH ein
molekularer Extinktionskoeffizient von $6,22 \text{ cm}^2 /$
 μMol (bei 340 nm) eingesetzt.

2.4.3 Auswertung

Mit Hilfe der Extinktionsdifferenz zwischen
Anfang und Ende der enzymatischen Reaktion
kann die Konzentration und damit auch die
Menge des umgesetzten Substrates errechnet
werden.

$$c = \frac{\Delta E \cdot V}{\epsilon \cdot d \cdot v} \left[\mu\text{Mol/ml Gehirnextrakt} \right]$$

c = Konzentration

d = Schichtdicke, $d = 1 \text{ cm}$ bzw. 5 cm

ϵ = molarer Extinktionskoeffizient, $\epsilon_{340} = 6,22$
 $\left[\text{cm}^2 / \mu\text{Mol} \right]$

V = Meßvolumen

v = eingesetztes Probevolumen

Bei der Ermittlung der Werte wurde ein Wassergehalt
des Gehirngewebes von 75% zugrunde gelegt.

$$\frac{c \cdot VF}{G} = \text{Konzentrationsangabe für Gehirngewebe}$$
$$\left[\mu\text{Mol/g Gehirn (Feuchtgewicht)} \right]$$

G = Gehirngewicht

VF = Verdünnungsfaktor

VF = $VF_1 \cdot VF_2$

VF_1 = $G \cdot 0,75 + \text{ml HClO}_4$

VF_2 = $\frac{\text{Vol. des Homogenat-Überstandes} + \text{Vol. benötigter } 5M \text{ K}_2\text{CO}_3}{\text{Vol. des Homogenat-Überstandes}}$

Die Konzentrationsangaben für Gehirngewebe erfolgen in $\mu\text{Mol/g Gehirn (Feuchtgewicht)}$ und sind nicht korrigiert für den Extrazellulärraum. Der Glykogengehalt ist ausgedrückt in Glucose - Einheiten, d.H., 1 μMol entspricht 162 μg . Zur Berechnung des intrazellulären Glucosegehaltes (Abb. 4) wurde ein Volumen von Intravasalraum und Extrazellulärraum von 15% verwendet (GRANHOLM et al., 1968).

2.5 Statistische Auswertung

1. Einzelwerte einschließlich der Mittelwerte und der mittleren Fehler der Mittelwerte werden in Tabellen aufgeführt.
2. Die Werte werden in Säulendiagrammen dargestellt.

3. Zur Prüfung auf Unterschiede wird der t-Test nach Student für unverbundene Stichproben angewandt.
4. Die Beziehung der Glucosekonzentration des Perfusionsmediums und der Glucosekonzentration des Gehirns wurde in einem Korrelationsdiagramm dargestellt und die Dosis-Wirkungskurve als lineare Regression berechnet.

3. ERGEBNISSE

3.1 EEG-Befunde

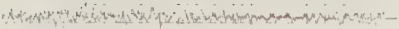
Eine Darstellung von EEG-Kurven bei einer Perfusionszeit von 30 min geben die Abbildungen 2 und 3 wieder. Im EEG von Kontrollperfusionen zeigte sich eine mittelhohe Grundaktivität mit vorherrschenden schnellen Frequenzen im Beta-Bereich (Abb.2). Unter Thiopental trat dann in den EEGs eine Grundaktivität auf, die vermehrt langsame Wellen geringer Amplitude im Theta- und Delta-Bereich enthielt, und die von einzelnen Spitzenentladungen unterbrochen wurde (Abb.3).

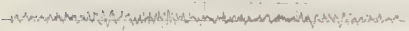
Die Glucosekonzentration im Medium schien, soweit visuell feststellbar, keinen merklichen Einfluß weder auf das EEG der Kontrollen noch auf dasjenige der Thiopentalversuche zu haben. Eine weitergehende EEG-Auswertung wurde in dieser Arbeit nicht vorgenommen.

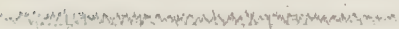
KONTROLLEN

EEG nach 30 min Perfusion

Glucose
im Medium

 5 mM

 6,5 mM

 12 mM

 15 mM

200 μ V 
1 sec

Abbildung 2:

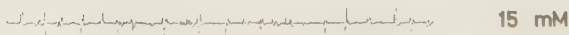
Das EEG des isolierten Rattenhirns unter dem Einfluß von verschiedenen Glucosekonzentrationen im Perfusionsmedium.

Das EEG wurde bipolar von beiden Hemisphären über der Parietalregion abgeleitet. Die Abbildung zeigt jeweils eine der in der Regel symmetrischen und synchronen Kurven nach 30 min Perfusionszeit. Die Glucosekonzentrationen im Perfusionsmedium betragen 5 mM, 6,5 mM, 12 mM bzw. 15 mM.

THIOPENTAL 0,15mM

EEG nach 30 min Perfusion

Glucose
im Medium



200 μ V 
1 sec

Abbildung 3:

Das EEG des isolierten Rattenhirns unter dem Einfluß von Thiopental und verschiedenen Glucosekonzentrationen im Perfusionsmedium; Thiopental war in einer Konzentration von 0,15 mM im Perfusionsmedium gelöst.

Nähere Erläuterungen siehe Legende zur Abbildung 2.

3.2. Veränderungen im Energiestoffwechsel des isolierten Rattenhirns

Die im Gehirn gemessenen Konzentrationen der Substrate und Metaboliten des Energiestoffwechsels sind in den Tabellen 2 - 9 aufgeführt. Zusätzlich sind in den Abbildungen 5 - 12 die Mittelwerte und mittleren Fehler der Mittelwerte dargestellt, und die nach dem t-Test signifikanten Veränderungen angegeben.

Die energiereichen Phosphate wiesen bei den Kontrollen mit zunehmender Glucosekonzentration im Medium keine deutlichen Unterschiede auf. Es war aber eine Tendenz zu besserer Energielage festzustellen, wenn eine höhere Glucosekonzentration im Medium vorlag. ATP stieg mit zunehmender Glucosekonzentration leicht an, während ADP und AMP geringgradig abnahmen. Der Quotient ATP/ADP vergrößerte sich somit bei höherer Glucosekonzentration.

Kreatinphosphat war bei den Thiopentalversuchen gegenüber den Kontrollen in allen Versuchsreihen auf das etwa gleiche Niveau signifikant erhöht; es

schien durch die Glucosekonzentration im Medium nicht beeinflußt zu sein. ATP war bei den niedrigen Glucosewerten unter dem Einfluß von Thiopental signifikant angestiegen; ADP ebenso wie AMP waren zum Teil signifikant abgefallen, Thiopental vergrößerte den Quotient ATP/ADP gegenüber den Kontrollen. In zwei Versuchsreihen war dies signifikant.

Die Summe der Adeninnukleotide war sowohl bei den Kontrollen als auch den Versuchen mit Thiopental annähernd gleich und zeigte keine Beeinflussung durch Änderung der Glucosekonzentration im Medium.

Die Glykogenkonzentration im Gehirn erfuhr durch ansteigende Glucosekonzentration im Medium keine einheitliche Beeinflussung. Bei niedrigen Glucosekonzentrationen fand sich unter der Einwirkung von Thiopental ein signifikanter Anstieg von Glykogen gegenüber den Kontrollen.

Stärkergradige Veränderungen als beim Glykogen traten im Glucosegehalt des Gehirns auf. Bei allen durchgeführten Versuchsreihen (Kontrollen und Thiopentalversuche) hatte eine Erhöhung der Glucosekonzentra-

tion im Medium stets eine Erhöhung der Glucosekonzentration im Gehirn zur Folge. Die Abbildung 4 zeigt die Beziehung zwischen der Glucosekonzentration im Medium (Abszisse) und der Glucosekonzentration im Gehirn (Ordinate). Im Konzentrationsbereich der durchgeführten Untersuchungen besteht sowohl bei den Kontrollen als auch bei den Versuchen mit Thiopental eine enge und statistisch signifikante lineare Korrelation zwischen diesen beiden Größen. Im Vergleich zu den Kontrollen bewirkte Thiopental bei jeder Glucosekonzentration des Mediums eine signifikante Erhöhung des Glucosegehaltes im Gehirn. Bei den in Abbildung 4 durchgezeichneten Regressionsgeraden sind die Steigungen nicht unterschiedlich. Das bedeutet, daß Thiopental gegenüber den Kontrollen immer eine Erhöhung der Glucosekonzentration im Gehirn um den gleichen Wert verursachte. Dieser Wert betrug ungefähr $0,9 \mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) und war unabhängig von der Höhe der jeweils im Medium vorliegenden Glucosekonzentration.

Es wurde die intrazelluläre Glucosekonzentration berechnet durch Korrektur der Glucosekonzentration im Gehirn um einen Wert von 15%. Dieser Wert wird für

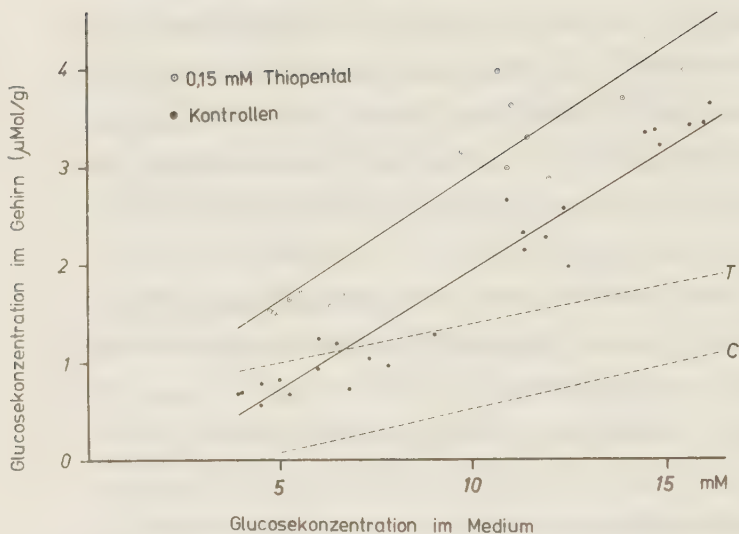


Abbildung 4:

Die Abhängigkeit der Glucosekonzentration im Gehirn von der Glucosekonzentration im Perfusionsmedium. Ordinate: Glucosekonzentration im Gehirn in $\mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht). Abszisse: Glucosekonzentration im Perfusionsmedium in mM.

Die eingezeichneten Punkte • (Kontrollen ohne Pharmakonzusatz) und Kreise ○ (0,15 mM Thiopental im Medium) sind jeweils Ergebnisse von Einzelversuchen; der Glucosegehalt des Gehirns ist nicht korrigiert für den Extrazellulärraum. Der Anstieg der ermittelten durchgezeichneten Regressionsgeraden ist nicht verschieden bei Kontrollversuchen ($y = 0,245x - 0,475$; $r = 0,938$, $n = 25$) und Versuchen mit Thiopental ($y = 0,259x + 0,339$, $r = 0,953$, $n = 25$).

Als Glucosewert im Medium wurde der Mittelwert aus der vor und nach Perfusion im Perfusionsmedium gemessenen Glucosekonzentration auf der Abszisse aufgetragen. Die gestrichelten Regressionsgeraden wurden erhalten, wenn die gemessenen Glucosewerte im Gehirn für einen Extrazellulärraum von 15% korrigiert wurden. C = Kontrollen ohne Pharmakonzusatz ($y = 0,088x - 0,396$, $r = 0,778$, $n = 25$); T = Versuche mit Thiopental ($y = 0,077x + 0,606$, $r = 0,538$, $n = 25$); r = Korrelationskoeffizient, n = Anzahl der Versuche.

den Vasalraum und Extrazellulärraum angenommen. Die daraus resultierenden (gestrichelt gezeichneten) Regressionsgeraden scheinen annähernd parallel (mit einer kleineren Steigung) und zeigen den gleichen Effekt wie bereits die unkorrigierten Werte. Dies ist Ausdruck dafür, daß sich die im Gehirn gemessene Glucosekonzentration sowohl durch die Erhöhung der Glucosekonzentration im Medium als auch durch den Einfluß von Thiopental im intrazellulären Raum ändert.

Von den Phosphorylierungsprodukten im Rahmen der Glykolyse wurden die Metaboliten Glucose-6-P und Fructose-6-P untersucht. Glucose-6-P erfuhr keine signifikante Veränderung, wenngleich es schien, daß mit steigender Glucosekonzentration im Medium ein leichter Anstieg von Glucose-6-P verbunden war. Die Konzentration von Fructose-6-P dagegen blieb unverändert. Thiopental erhöhte die Konzentration beider Metaboliten nur geringfügig gegenüber den Kontrollen.

Die Konzentration von Lactat und Pyruvat im Gehirn wurde durch die Änderung der Glucosekonzentration im Medium bei den Kontrollreihen nicht beeinflusst. Sie te-

wegte sich in der gleichen Größenordnung. Nach Thiopental war eine Abnahme von Pyruvat und Lactat auf ein jeweils etwa gleiches Niveau in allen Gruppen zu beobachten, die jedoch nicht in allen Versuchsreihen signifikant war. Der Quotient Lactat/Pyruvat, der ein Indikator für das Redoxpotential des Gehirns ist, änderte sich praktisch nicht. Er stimmte mit den aus anderen Untersuchungen bekannten Werten überein.

Die Konzentrationen von α -Ketoglutarat sowie von Glutamat schien weder durch die verschiedenen Glucosekonzentrationen im Medium noch durch Thiopental eine Veränderung zu erfahren.

Die Konzentration von Ammoniak bewegte sich in den meisten Versuchen im gleichen Konzentrationsbereich. Lediglich bei der Versuchsreihe mit 15 mM Glucose im Medium führte Thiopental zu einer signifikanten Erniedrigung des Ammoniakspiegels.

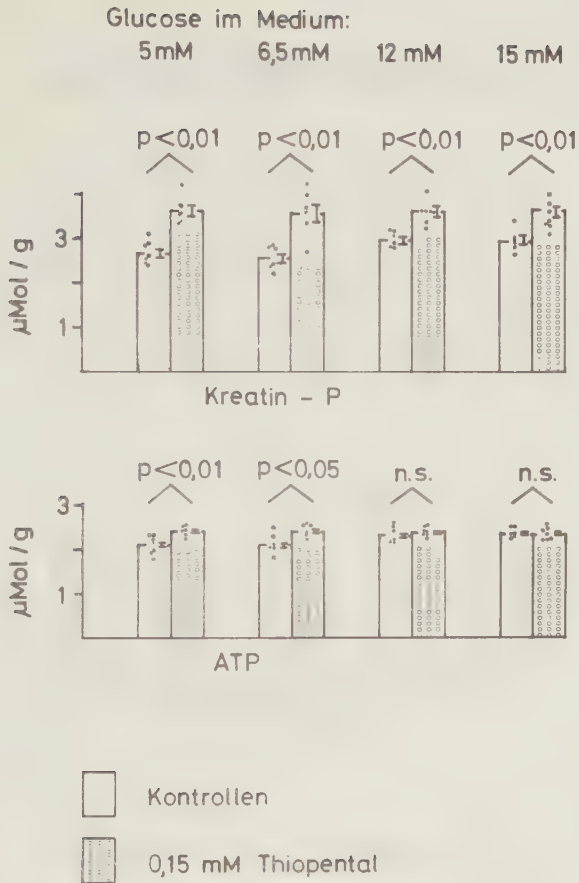


Abbildung 5:

Säulendiagramme von Kreatin - P und ATP im isolierten Rattenhirn.

Die Kontrollversuche sind den Versuchen mit 0,15 mM Thiopental bei den verschiedenen Glucosekonzentrationen gegenüber gestellt. Die Säulen entsprechen dem Mittelwert, die Balken $\perp$ dem mittleren Fehler des Mittelwertes, die Punkte den Einzelwerten. Gleichgroße Einzelwerte wurden nebeneinander gezeichnet. Die statistischen Unterschiede sind über den Säulen vermerkt. n.s. = nicht signifikant.

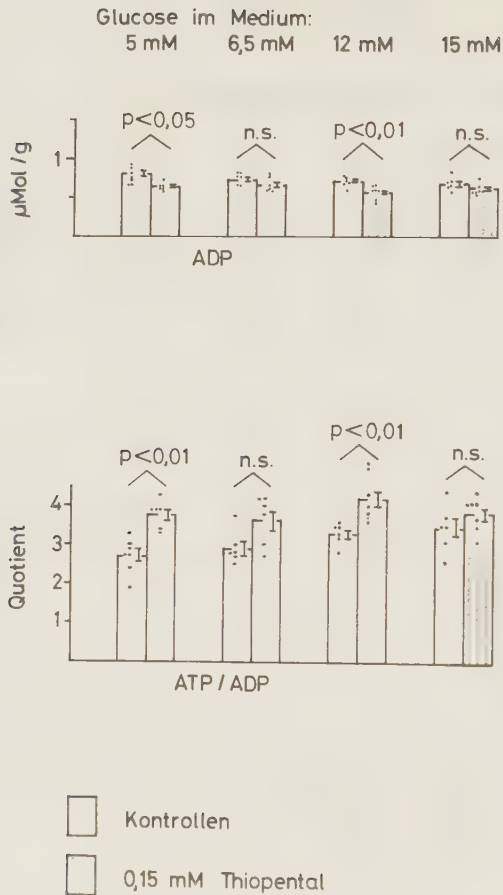


Abbildung 6:

Säulendiagramme von ADP und dem Quotienten ATP/ADP im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

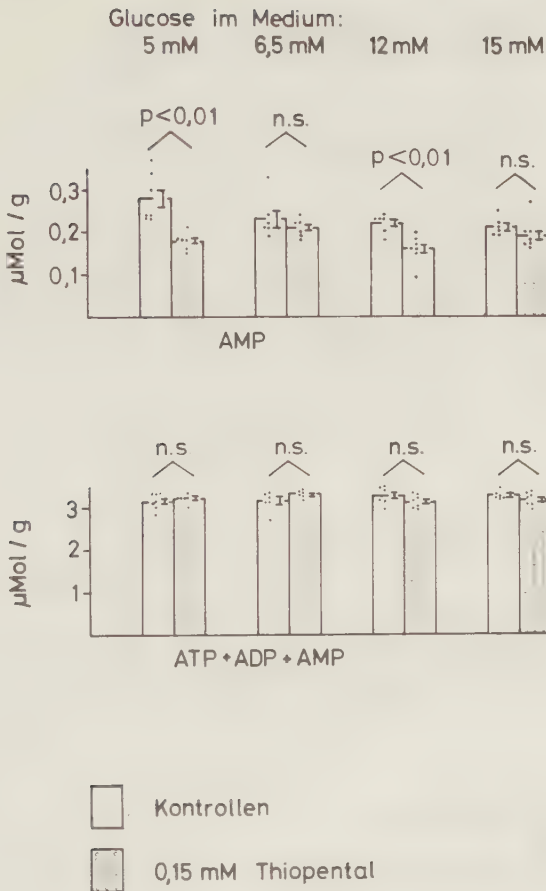


Abbildung 7:

Säulendiagramme von AMP und der Summe von ATP + ADP + AMP im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

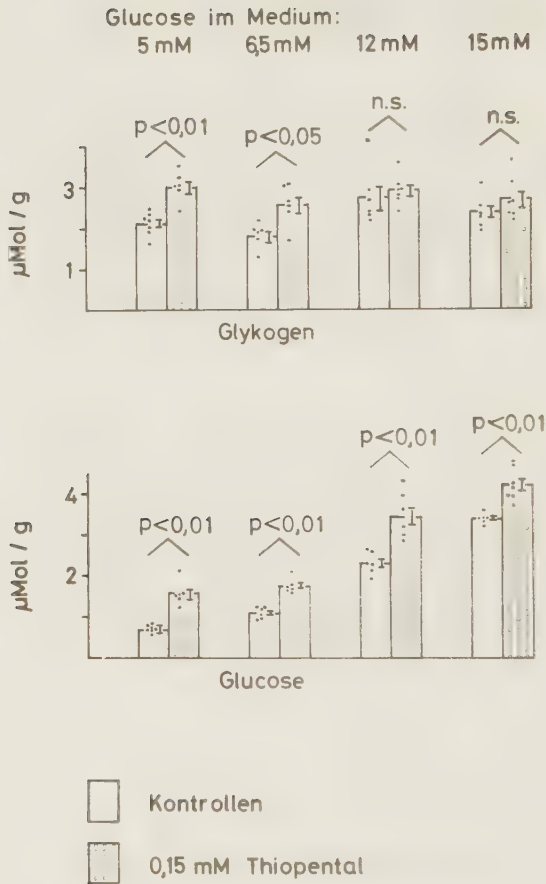


Abbildung 8:

Säulendiagramme von Glykogen und Glucose im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

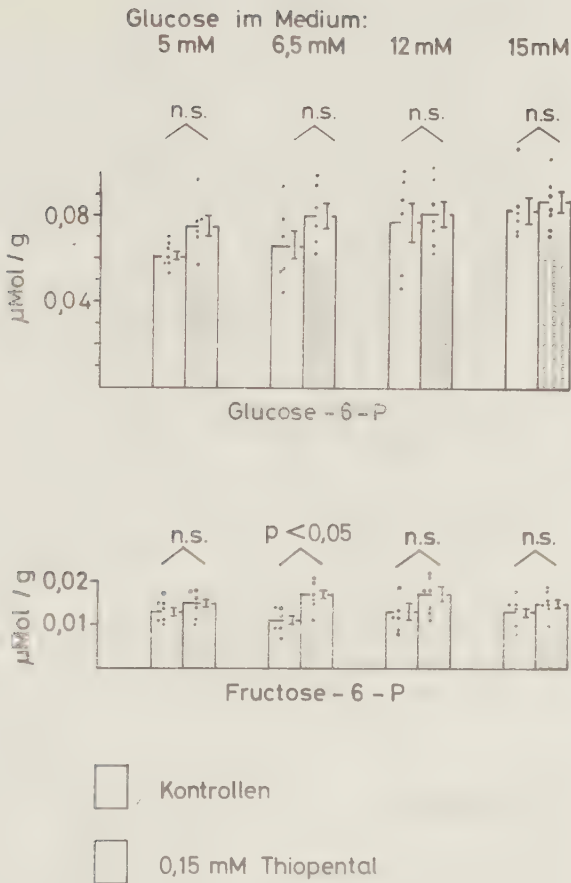


Abbildung 9:

Säulendiagramme von Glucose-6-P und von Fructose-6-P im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

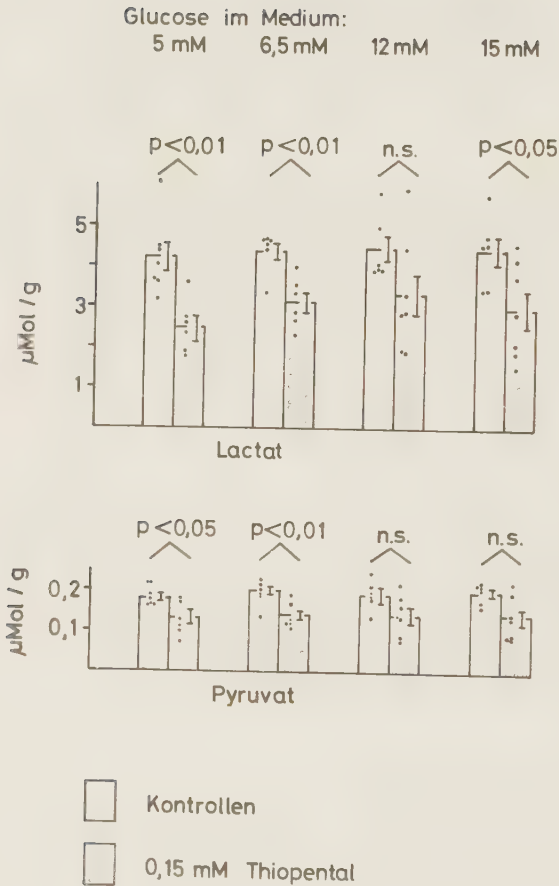


Abbildung 10:

Säulendiagramme von Lactat und Pyruvat im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

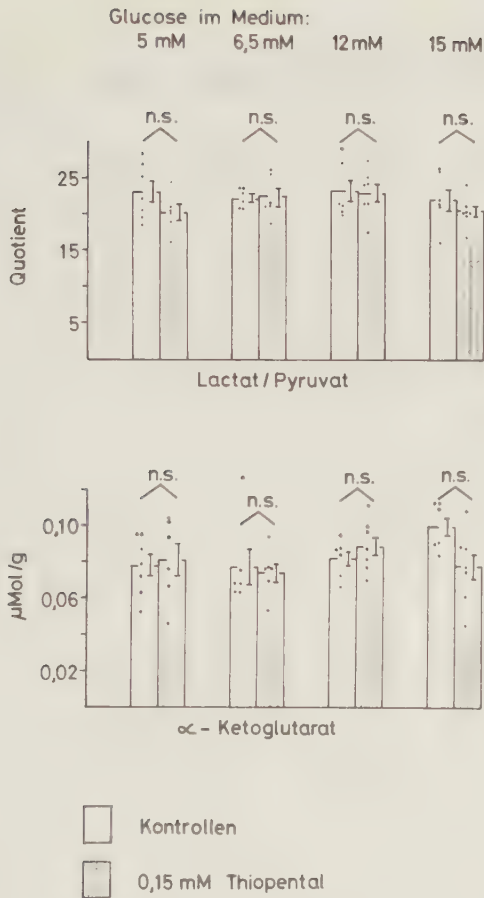


Abbildung 11:

Säulendiagramme von Lactat/Pyruvat und von α -Ketoglutarat im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

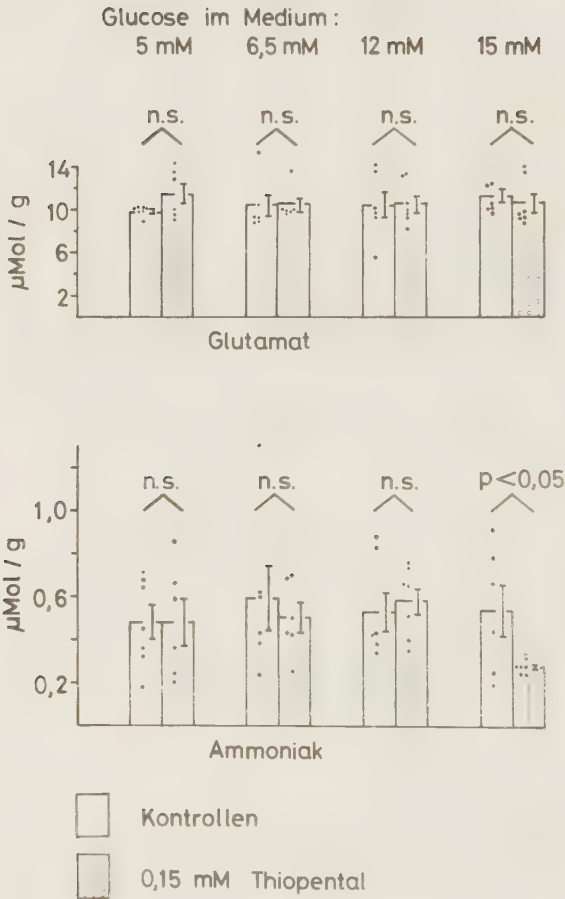


Abbildung 12:

Säulendiagramme von Glutamat und Ammoniak im isolierten Rattenhirn.

Nähere Erläuterungen siehe Abbildung 5.

Vers.Nr.	1	2	3	4	5	6	7	$\bar{x}$	$s^2 \bar{x}$
Kreatin-P	2.59	2.41	2.56	3.10	2.88	2.45	2.86	2.69	0.10
ATP	1.93	1.77	2.21	2.31	2.15	1.97	2.32	2.09	0.08
ADP	0.66	0.92	0.66	0.76	0.88	0.72	0.80	0.77	0.04
ATP/ADP	2.9	1.9	3.3	3.0	2.4	2.7	2.9	2.7	0.2
AMP	0.24	0.37	0.23	0.24	0.30	0.34	0.23	0.28	0.02
ATP+ADP+AMP	2.83	3.16	3.10	3.31	3.33	3.03	3.35	3.16	0.07
Glykogen	1.61	2.01	2.47	1.92	2.34	2.20	2.23	2.11	0.11
Glucose	0.67	0.68	0.56	0.69	0.72	0.78	0.81	0.70	0.03
Glucose-6-P	0.070	0.065	0.067	0.060	0.053	0.058	0.057	0.061	0.002
Fructose-6-P	0.015	0.010	0.011	0.014	0.017	0.011	0.015	0.013	0.001
Pyruvat	0.215	0.161	0.162	0.217	0.186	0.162	0.175	0.183	0.009
Lactat	6.08	4.04	3.60	4.46	3.65	4.36	3.19	4.20	0.36
Lac./Pyr.	28.3	25.1	22.2	20.6	19.6	26.9	18.2	23.0	1.5
α - KG	0.052	0.063	0.087	0.095	0.072	0.079	0.095	0.078	0.006
Glutamat	10.10	8.85	9.77	10.19	10.04	9.70	10.12	9.82	0.18
Ammoniak	0.18	0.64	0.68	0.71	0.45	0.32	0.36	0.48	0.08

Tabelle 2: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn: Kontrollversuche mit 5 mM Glucose im Perfusionsmedium (Versuchsreihe I). $\bar{x}$ = Mittelwert, s^2 = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{Mol}/\bar{g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers Nr	1	2	3	4	5	$\bar{c}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Kreatin-P	2.44	2.29	2.37	2.83	2.83	2.78	2.58	0.11
ATP	1.83	2.48	2.02	2.03	2.31	2.11	2.13	0.09
ADP	0.65	0.66	0.82	0.76	0.76	0.82	0.75	0.03
ATP/ADP	2.8	3.8	2.5	2.7	3.0	2.8	2.9	0.2
AMP	0.21	0.21	0.22	0.33	0.24	0.19	0.23	0.02
ATP+ADP+AMP	2.69	3.35	3.26	3.12	3.31	3.12	3.14	0.10
Glykogen	1.72	1.90	1.94	1.22	2.18	1.95	1.82	0.13
Glucose	0.95	1.19	1.01	0.92	1.23	1.21	1.09	0.06
Glucose-6-P	0.055	0.093	0.044	0.070	0.078	0.054	0.066	0.007
Fructose-6-P	0.007	0.014	0.009	0.014	0.012	0.009	0.011	0.001
Pyruvat	0.227	0.215	0.202	0.191	0.186	0.160	0.197	0.010
Lactat	4.68	4.67	4.61	4.51	4.40	3.31	4.36	0.22
Lac./Pyr.	20.6	21.7	22.8	23.6	23.6	20.7	22.2	0.6
α -KG	0.063	0.127	0.068	0.063	0.075	0.068	0.077	0.010
Glutamat	8.96	9.05	9.25	8.77	10.38	15.26	10.28	1.02
Ammoniak	0.38	0.62	0.23	0.60	0.43	1.30	0.59	0.15

Tabelle 3: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn: Kontrollversuche mit 6,5 mM Glucose im Perfusionsmedium (Versuchsreihe II). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes, die Konzentrationen sind in $\mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers.Nr.	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Kreatin-P	3.09	2.80	3.17	2.92	3.21	2.83	3.00	0.07
ATP	2.50	2.14	2.41	2.21	2.56	2.15	2.33	0.08
ADP	0.75	0.61	0.73	0.69	0.71	0.77	0.71	0.02
ATP/ADP	3.3	3.5	3.5	3.2	3.6	2.8	3.3	0.1
AMP	0.23	0.20	0.24	0.23	0.18	0.23	0.22	0.01
ATP+ADP+AMP	3.48	2.95	3.38	3.13	3.45	3.15	3.26	0.09
Glykogen	2.17	2.93	2.40	2.66	4.16	2.32	2.77	0.30
Glucose	2.27	2.14	2.30	2.57	1.92	2.63	2.31	0.11
Glucose-6-P	0.101	0.081	0.052	0.088	0.096	0.046	0.077	0.009
Fructose-6-P	0.016	0.009	0.012	0.019	0.008	0.012	0.013	0.002
Pyruvat	0.214	0.199	0.189	0.183	0.245	0.134	0.194	0.015
Lactat	5.81	3.96	4.01	3.91	4.96	3.90	4.43	0.32
Lac./Pyr.	27.1	19.9	21.2	21.4	20.3	29.1	23.2	1.6
α - KG	0.066	0.073	0.088	0.087	0.095	0.084	0.082	0.004
Glutamat	9.69	10.07	14.07	9.47	5.41	13.46	10.36	1.28
Ammoniak	0.38	0.88	0.73	0.34	0.43	0.42	0.53	0.09

Tabelle 4: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn; Kontrollversuche mit 12 mM Glucose im Perfusionsmedium (Versuchsreihe III). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers.Nr.	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Kreatin-P	2.99	3.43	2.63	2.80	2.93	3.08	2.98	0.11
ATP	2.36	2.51	2.27	2.14	2.35	2.50	2.36	0.06
ADP	0.68	0.57	0.73	0.83	0.64	0.71	0.69	0.04
ATP/ADP	3.5	4.4	3.1	2.6	3.7	3.5	3.5	0.2
AMP	0.19	0.19	0.21	0.22	0.20	0.25	0.21	0.01
ATP+ADP+AMP	3.23	3.27	3.21	3.19	3.19	3.46	3.26	0.04
Glykogen	3.09	2.03	2.32	1.92	2.27	2.62	2.38	0.17
Glucose	3.40	3.39	3.20	3.33	3.42	3.59	3.39	0.05
Glucose-6-P	0.084	0.111	0.078	0.062	0.073	0.071	0.083	0.006
Fructose-6-P	0.008	0.014	0.010	0.015	0.015	0.018	0.013	0.001
Pyruvat	0.216	0.218	0.174	0.222	0.205	0.162	0.200	0.010
Lactat	3.43	5.76	4.53	4.74	5.52	3.40	4.40	0.36
Lac./Pyr.	15.9	26.4	26.0	21.4	22.0	22.0	22.1	1.6
α - KG	0.091	0.110	0.113	0.084	0.113	0.090	0.100	0.005
Glutamat	13.36	9.67	10.16	9.94	13.14	10.41	11.11	0.68
ammoniak	0.66	0.78	0.91	0.44	0.25	0.19	0.54	0.12

Tabelle 5: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn: Kontrollversuche mit 15 mM Glucose im Perfusionsmedium (Versuchsreihe IV). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers.Nr.	1	2	3	4	5	n	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Kreatin-P	3.38	4.18	3.55	3.54	3.76	3.52	3.62	0.13
ATP	2.53	2.01	2.24	2.45	2.40	2.32	2.41	0.05
ADP	0.65	0.52	0.65	0.62	0.61	0.71	0.64	0.02
ATP/ADP	3.9	4.3	3.4	3.9	3.9	3.3	3.8	0.2
AMP	0.13	0.15	0.11	0.18	0.21	0.18	0.18	0.01
ATP+ADP+AMP	3.36	3.24	3.05	3.23	3.23	3.21	3.22	0.04
Glykogen	3.04	3.05	2.41	3.56	2.94	3.26	3.04	0.16
Glucose	1.22	1.53	1.51	0.57	2.15	1.44	1.57	0.13
Glucose-6-P	0.077	0.097	0.075	0.075	0.078	0.057	0.075	0.005
Fructose-6-P	0.114	0.016	0.010	0.011	0.018	0.018	0.015	0.001
Pyruvat	0.174	0.127	0.164	0.099	0.070	0.112	0.126	0.017
Lactat	3.60	2.59	2.72	1.87	1.71	2.34	2.47	0.28
Lac./Pyr.	20.1	0.4	16.1	18.9	24.4	20.9	20.1	1.1
d - ad	0.093	0.076	0.104	0.102	0.045	0.066	0.081	0.009
Glutamat	13.54	9.93	12.85	9.50	9.04	14.27	11.52	0.93
Ammoniak	0.24	0.86	0.59	0.66	0.20	0.36	0.49	0.11

Labelle 6: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn: Versuche mit 5 mM Glucose und 0,15 mM Thiopental im Perfusionsmedium (Versuchsreihe V). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers. Nr.	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	$s - \bar{x}$
Kreatin-P	2.70	3.68	4.00	3.61	4.26	3.33	3.60	0.22
ATP	2.59	2.21	2.38	2.54	2.55	2.33	2.43	0.06
ADP	0.62	0.82	0.60	0.61	0.67	0.77	0.68	0.04
ATP/ADP	4.2	2.7	4.0	4.2	3.8	3.0	3.7	0.3
AMP	0.22	0.24	0.19	0.20	0.18	0.22	0.21	0.01
ATP+ADP+AMP	3.43	3.27	3.17	3.35	3.40	3.32	3.32	0.04
Glykogen	2.53	1.69	2.66	3.09	2.40	3.03	2.57	0.21
Glucose	1.57	1.66	2.09	1.71	1.77	1.64	1.74	0.08
Glucose-6-P	0.099	0.084	0.068	0.075	0.094	0.062	0.080	0.006
Fructose-6-P	0.021	0.020	0.016	0.017	0.011	0.015	0.017	0.001
Pyruvat	0.189	0.109	0.123	0.168	0.130	0.124	0.141	0.013
Lactat	3.99	2.85	2.29	3.53	3.33	2.67	3.11	0.25
Lac./Pyr.	21.1	26.1	18.6	21.0	25.6	21.5	22.3	1.2
α - KG	0.094	0.053	0.070	0.077	0.076	0.076	0.074	0.005
Glutamat	9.72	9.93	9.83	13.52	9.66	9.99	10.44	0.62
Ammoniak	0.50	0.25	0.70	0.69	0.42	0.43	0.50	0.07

Tabelle 7: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn: Versuche mit 6,5 mM Glucose und 0,15 mM Thiopental im Perfusionsmedium (Versuchsreihe VI). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s - \bar{x}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{mol/g}^x$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers.nr.	1	2	3	4	5	6	7	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Kreatin-P	3.64	3.26	3.42	4.26	3.63	3.62	3.58	3.63	0.12
ATP	2.33	2.38	2.25	2.54	2.49	2.35	2.41	2.39	0.04
ADP	0.46	0.48	0.60	0.59	0.68	0.66	0.61	0.58	0.03
ATP/ADP	5.1	5.0	3.8	4.3	3.7	3.6	4.0	4.2	0.2
AMP	0.17	0.09	0.18	0.16	0.16	0.20	0.15	0.16	0.01
ATP+ADP+AMP	2.96	2.95	3.03	3.29	3.33	3.21	3.17	3.13	0.06
Glykogen	2.37	2.83	2.94	2.90	3.06	2.72	3.60	2.92	0.14
Glucose	2.98	2.85	3.19	4.30	3.95	3.29	3.60	3.45	0.20
Glucose-6-P	0.103	0.097	0.067	0.078	0.063	0.074	0.086	0.081	0.006
Fructose-6-P	0.021	0.018	0.014	0.018	0.011	0.013	0.022	0.017	0.002
Pyruvat	0.183	0.216	0.133	0.087	0.077	0.136	0.164	0.142	0.019
Lactat	4.45	5.91	2.86	1.87	1.93	3.28	2.83	3.30	0.54
Lac./Pyr.	24.3	27.4	21.5	21.5	25.1	24.1	17.3	23.0	1.2
d - KG	0.100	0.112	0.077	0.088	0.070	0.081	0.097	0.089	0.005
Glutamat	8.16	9.59	9.19	10.42	13.34	13.19	9.97	10.55	0.75
Ammoniak	0.51	0.35	0.74	0.65	0.66	0.76	0.40	0.58	0.06

Tabelle 8: Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Kattenhirn: Versuche mit 12 mM Glucose und 0,15 mM Thiopental im Perfusionmedium (Versuchsreihe VII). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{mol/g}$ Gehirn (Feuchtgewicht) angegeben.

Vers.Nr.	1	2	3	4	5	6	7	$\bar{x}$	$s-\bar{x}$
Kreatin-P	3.12	3.31	3.42	4.01	3.81	3.65	3.35	3.52	0.12
ATP	2.33	2.22	2.46	2.56	2.22	2.25	2.43	2.35	0.05
ADP	0.76	0.64	0.60	0.58	0.54	0.61	0.60	0.62	0.03
ATP/ADP	3.1	3.5	4.1	4.4	4.1	3.7	4.1	3.9	0.2
AMP	0.27	0.20	0.20	0.16	0.17	0.18	0.17	0.19	0.01
ATP+ADP+AMP	3.36	3.06	3.26	3.30	2.93	3.04	3.20	3.16	0.06
Glykogen	2.32	2.39	2.61	3.09	2.19	2.57	3.65	2.69	0.19
Glucose	3.67	4.25	4.69	3.92	4.16	3.92	4.77	4.20	0.15
Glucose-6-P	0.107	0.083	0.074	0.104	0.081	0.090	0.071	0.087	0.005
Fructose-6-P	0.014	0.010	0.015	0.018	0.015	0.019	0.016	0.015	0.001
Pyruvat	0.222	0.183	0.092	0.089	0.143	0.196	0.086	0.144	0.021
Lactat	4.53	3.72	1.86	1.48	2.84	4.16	2.08	2.95	0.45
Lac./Pyr.	20.4	20.3	20.2	16.7	19.8	21.2	24.2	20.4	0.83
α - KG	0.088	0.075	0.061	0.078	0.045	0.109	0.089	0.078	0.008
Glutamat	9.21	9.19	13.54	9.72	8.79	13.90	9.56	10.56	0.82
Ammoniak	0.24	0.34	0.32	0.28	0.24	0.28	0.28	0.28	0.01

Tabella 2. Konzentrationen von Substraten und Metaboliten des Energiestoffwechsels im isolierten Rattenhirn: Versuche mit 15 mM Glucose und 0,15 mM Thiopental im Perfusionsmedium (Versuchsreihe VIII). $\bar{x}$ = Mittelwert, $s-\bar{x}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes; die Konzentrationen sind in $\mu\text{Mol/g Gehirn}$ (Feuchtgewicht) angegeben.

Tabelle 10: Glucosekonzentrationen (angegeben in mM) im Medium bei den Kontrollversuchen. Glucose A: vor Beginn der Perfusion; Glucose B: direkt nach Ablauf der Perfusion (siehe 2.3.1).

Versuchsreihe I, n = 7

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	5,3	5,2
2	4,3	3,4
3	5,1	3,9
4	4,1	3,9
5	6,7	7,3
6	4,6	4,4
7	4,7	5,0
	$\bar{x}$ 5,0	$\bar{x}$ 4,7
	$s_{\bar{x}}$ 0,3	$s_{\bar{x}}$ 0,5

Versuchsreihe II, n = 6

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	8,1	7,8
2	6,5	6,4
3	7,4	7,2
4	6,2	5,8
5	9,8	8,2
6	5,0	7,1
	$\bar{x}$ 7,2	$\bar{x}$ 7,1
	$s_{\bar{x}}$ 0,7	$s_{\bar{x}}$ 0,4

Versuchsreihe III, n = 6

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	16,0	7,8
2	11,4	11,3
3	10,1	12,6
4	12,4	12,6
5	15,7	13,8
6	15,0	6,7
	$\bar{x}$ 13,4	$\bar{x}$ 10,8
	$s_{\bar{x}}$ 1,0	$s_{\bar{x}}$ 1,2

Versuchsreihe IV, n = 6

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	16,7	14,5
2	13,3	11,7
3	15,5	14,1
4	15,0	13,9
5	16,0	16,0
6	16,4	16,0
	$\bar{x}$ 15,5	$\bar{x}$ 14,4
	$s_{\bar{x}}$ 0,5	$s_{\bar{x}}$ 0,7

Tabelle 11: Glucosekonzentrationen (angegeben in mM) im Medium bei den Versuchen mit 0,15 mM Thiopental. Glucose A: kurz vor Beginn der Perfusion; Glucose B: direkt nach Ablauf der Perfusion (siehe 2.3.1.).

Versuchsreihe V, n = 6

Versuchsreihe VI, n = 6

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	5,6	4,9
2	5,1	4,4
3	5,3	4,4
4	4,0	3,9
5	7,0	6,4
6	5,6	4,3
	$\bar{x}$ 5,4	$\bar{x}$ 4,7
	$s_{\bar{x}}$ 0,4	$s_{\bar{x}}$ 0,4

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	7,1	5,5
2	7,1	6,2
3	5,3	5,3
4	5,4	5,7
5	5,2	4,4
6	5,5	5,0
	$\bar{x}$ 6,0	$\bar{x}$ 5,4
	$s_{\bar{x}}$ 0,4	$s_{\bar{x}}$ 0,3

Versuchsreihe VII, n = 7

Versuchsreihe VIII, n = 7

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	15,0	13,9
2	13,2	10,9
3	8,1	11,4
4	11,3	10,5
5	11,0	10,3
6	11,5	11,3
7	11,4	10,7
	$\bar{x}$ 11,6	$\bar{x}$ 11,3
	$s_{\bar{x}}$ 0,8	$s_{\bar{x}}$ 0,5

Vers.Nr.	Glucose A	Glucose B
1	17,7	19,1
2	15,3	11,1
3	14,9	12,9
4	16,2	15,6
5	14,9	13,5
6	14,2	13,7
7	15,6	15,3
	$\bar{x}$ 15,5	$\bar{x}$ 14,5
	$s_{\bar{x}}$ 0,4	$s_{\bar{x}}$ 1,0

4. DISKUSSION

In zahlreichen Untersuchungen an Versuchstieren in vivo wurde die Wirkung von Narkotika auf den cerebralen Energiestoffwechsel untersucht (LOWRY et al., 1964; NILSSON u. SIESJÖ, 1970) und gezeigt, daß diese zu einer Erhöhung der Energiereserven im Gehirn führen können. Als wichtigster Effekt fand sich eine Erhöhung der cerebralen Glucosekonzentration. Die Glucose ist der Hauptenergielieferant für das Gehirn und wird über den Blutweg bereitgestellt. Die Glucose im Gehirn wird nun einerseits durch Narkotika erhöht, auf der anderen Seite kann aber eine Narkose mit einer Erhöhung der Blutglucose einhergehen (BRUNNER et al., 1971), die wiederum die Glucosekonzentration im Gehirn beeinflusst. Bei in vivo-Untersuchungen kann der Einfluß beider Faktoren nicht klar auseinander gehalten werden.

Es war nun zu klären, inwieweit eine Erhöhung der Glucosekonzentration im Medium den Energiestoffwechsel des Gehirns beeinflusst, und ob dadurch die durch Narkotika hervorgerufenen Stoffwechsel-

effekte verändert werden.

Mit der Methode der Perfusion des isolierten Rattenhirns wurde diese Fragestellung untersucht, denn diese Untersuchungstechnik ermöglicht es, die Glucosekonzentration frei zu wählen und annähernd konstant zu halten, da keine endokrinen Gegenregulationen stattfinden können. Die Gehirnfunktion wurde mittels EEG - Ableitung überprüft. Als Narkotikum wurde Thiopental verwandt. Die Konzentration von Thiopental lag in einer Größenordnung, die den bei Untersuchungen an narkotisierten Tieren und bei klinischen Untersuchungen gefundenen Werten entsprach (BRODIE et al., 1950). Thiopental dringt auf Grund seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften schnell in das Zentralnervensystem (ZNS) ein. Die Perfusionszeit konnte auf 30 min beschränkt werden, da bereits nach wenigen Minuten der narkotische Effekt des Thiopentals im EEG sichtbar wurde und sich danach nicht mehr änderte.

Das EEG zeigte unter Thiopental die für dieses Narkotikum typischen Effekte im Sinne einer Verschiebung der Frequenzen in den Delta- und Theta-Bereich und als weiteres Kennzeichen das Auftreten von Spitzenpotentialen (KIERSEY et al., 1951). Eine steigende Glucosekonzentration im Perfusionsmedium schien weder bei den EEGs der Kontrollen noch der Versuche mit Thiopental eine Veränderung zu bewirken. Allerdings wurde in dieser Arbeit keine quantitative EEG-Auswertung vorgenommen.

Die Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen zeigten, daß Kreatinphosphat durch verschiedene Glucosekonzentrationen praktisch nicht beeinflusst wurde. ATP und der Quotient ATP/ADP lagen bei den niedrigen Glucosekonzentrationen, die etwa dem physiologischen Blutspiegel bei der Ratte entsprechen, etwas niedriger als bei höheren Glucosekonzentrationen im Medium. Diese Veränderungen weisen möglicherweise auf eine Tendenz zu einer besseren Energiestoffwechsellaage hin, die durch das vermehrte Glucoseangebot im Perfusionsmedium bedingt sein

könnte. Durch eine steigende Glucosekonzentration im Medium wurde der Glykogengehalt des Gehirns nicht merklich beeinflusst. Dies könnte auf die relativ kurze Perfusionszeit von 30 min zurückzuführen sein. Aus Untersuchungen in vivo ist bekannt, daß Veränderungen der Glykogenkonzentration nach intravenöser oder intraperitonealer Applikation von Glucoselösung erst nach längeren Applikationszeiten zu beobachten waren (NELSON et al., 1968).

Die Glucosekonzentration im Gehirn zeigte im untersuchten Konzentrationsbereich eine lineare Abhängigkeit von der Glucose im Medium. Die gemessene Glucosekonzentration im Gewebsextrakt liefert jedoch unkorrigierte Werte, d.h., die Glucose, die sich im Extrazellulärraum und Vasalraum befindet, wurde neben der intrazellulären Glucose miterfaßt. Da eine Bestimmung des Extrazellulärraums des Gehirns relativ schwierig ist - in der Literatur findet man Angaben von 5 - 25 %, je nach Methode - werden die Konzentrationen von physiologischen Substanzen im Gehirngewebe von den meisten Autoren in der Regel

unkorrigiert angegeben. Um dennoch einen Eindruck von der intrazellulären Glucosekonzentration zu erhalten, wurden die Werte um ein extrazelluläres Volumen von 15% korrigiert. GRANHOLM et al. (1968) berücksichtigten bei ihren Korrekturen einen Vasalraum von 3% und einen Extrazellulärraum von 12%. Wir führten unsere Kalkulationen unter der Annahme einer gleichen Glucosekonzentration in Blut und Extrazellulärflüssigkeit durch. Da wir nicht wissen, ob die Glucose gleichmäßig im Extrazellulärraum verteilt ist, und da andererseits keine Anhaltspunkte dafür bestehen, daß die Glucosekonzentration in der Extrazellulärflüssigkeit höher als im Blut sein kann, korrigierten wir somit für einen höchstmöglichen extrazellulären Glucoseanteil. Demnach scheint auch die intrazelluläre Glucosekonzentration eine lineare Abhängigkeit von der Glucosekonzentration im Perfusionsmedium zu haben (siehe Abbildung 4). Unsere Ergebnisse stimmen nur bedingt mit denen von LEWIS et al. (1974) überein. Diese Autoren beobachteten an Ratten in vivo ebenfalls eine lineare Beziehung zwischen der Glucosekonzentration in Blut und Gehirn,

jedoch nur bei Glucosekonzentrationen im Blut bis zu 7 $\mu\text{Mol/g}$. Bei höheren Glucosekonzentrationen fanden sie einen geringeren Glucoseanstieg im Gehirn.

Da also eine Zunahme der Glucose im Perfusionsmedium zu einem Anstieg der Glucose in der Zelle führte, muß mehr Glucose in die Zelle aufgenommen worden sein, als in dieser verbraucht wurde. Dieser Befund bildet somit einen weiteren Hinweis dafür, daß der Glucosetransport in das Gehirn nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für die Glykolyse sein kann (GROWDON et al., 1971); ihre Regulation scheint eher innerhalb der Zelle zu erfolgen.

Unter dem Einfluß von Thiopental auf den Energiestoffwechsel war nun, wie von anderen Narkotika aus früheren Untersuchungen bekannt (KRIEGLSTEIN et al., 1972; KRIEGLSTEIN u. STOCK, 1975) eine Anhäufung von energiereichen Verbindungen nachzuweisen: Kreatinphosphat war gegenüber den Kontrollen in allen Versuchsreihen signifikant erhöht und

innerhalb der Versuchsreihen mit Thiopental auf etwa gleichem Niveau. ATP und der Quotient ATP/ADP waren ebenfalls erhöht, zum Teil signifikant. Die verschiedenen Glucosekonzentrationen im Medium hatten, außer auf die Glucosekonzentration im Gehirn, innerhalb der Versuchsreihen mit Thiopental keinen Einfluß auf die untersuchten Metaboliten der Glykolyse. Die Glucosekonzentration im Gehirn verhielt sich wiederum linear zur Mediumglucose. Allerdings ist der Glucosegehalt des Gehirns in Gegenwart von Thiopental deutlich höher als bei den entsprechenden Kontrollversuchen. Wie aus Abbildung 4 ersichtlich, erfolgt diese Erhöhung immer um den gleichen Wert. Dieser war unabhängig von der im Gehirn vorher vorliegenden Glucosekonzentration. Nach Thiopental fielen Pyruvat und Lactat in allen Versuchsreihen ab, während sich der Quotient Lactat/Pyruvat in der gleichen Größenordnung wie bei den Kontrollversuchen bewegte.

Der Anstieg der intrazellulären Glucosekonzentration und der gleichzeitige Abfall von Lactat und Pyruvat weisen daraufhin, daß durch Thiopentalnarkose eine

Hemmung der Glykolyse erfolgte. Diese Hemmung jedoch muß in Reaktionsschritten passieren, die nach der Aufnahme der Glucose in die Zelle liegen. TABERNER (1973) konnte ebenfalls keine Beeinflussung des Glucosetransportes in das Gehirn durch Barbiturate nachweisen.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit scheint es naheliegend, daß Narkotika wie Thiopental den Glucoseabbau - direkt oder indirekt - in Reaktionsschritten beeinflussen, die am Anfang liegen, möglicherweise bereits in den ersten Phosphorylierungsreaktionen. Da die Konzentrationen von Glucose-6-P und Fructose-6-P weder deutlich erhöht noch erniedrigt wurden, dürfte die Bremsung der Glykolyse durch Hemmung von Hexokinase und Phosphofructokinase erfolgen. Inwieweit diese Beeinflussung jedoch mit der Entfaltung der narkotischen Wirkung in Zusammenhang steht, kann an dieser Stelle nicht geklärt werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde der Einfluß von Thiopental auf den Energiestoffwechsel des isolierten Rattenhirns bei verschiedenen Glucosekonzentrationen im Perfusionsmedium untersucht. Als Untersuchungsmethode wurde das isoliert perfundierte Rattenhirn nach ANDJUS et al. (1967) benutzt. Es wurden Versuchsreihen mit 6 oder 7 Experimenten durchgeführt, jeweils ohne Pharmakonzusatz (Kontrollen) und mit 0,15 mM Thiopental, bei einer Glucosekonzentration im Medium von 5 mM, 6,5 mM, 12 mM bzw. 15 mM. Die Konzentrationen der folgenden Substrate und Metaboliten des Energiestoffwechsels wurden enzymoptisch bestimmt: Kreatin-P, ATP, ADP, AMP, Glykogen, Glucose, Glucose-6-P, Fructose-6-P, Lactat, Pyruvat, α - Ketoglutarat, Glutamat und Ammoniak.

Die Konzentration von Kreatin-P wurde weder bei den Kontrollen noch bei den Versuchen mit Thiopental durch eine ansteigende Glucosekonzentration im Medium beeinflusst. Thiopental verursachte gegenüber

den Kontrollen immer einen signifikanten Anstieg von Kreatin-P. Unter dem Einfluß von Thiopental war bei den niedrigen Glucosekonzentrationen im Medium ATP signifikant angestiegen; ADP und AMP zum Teil signifikant abgefallen. Der Quotient ATP/ADP vergrößerte sich gegenüber den Kontrollen. Thiopental verursachte bei niedrigen Glucosekonzentrationen im Medium einen leichten Anstieg von Glykogen im Gehirn. Die verschiedenen Glucosekonzentrationen übten keinen merklichen Effekt auf das Glykogen aus.

Im untersuchten Konzentrationsbereich verhielt sich die im Gehirn gemessene Glucosekonzentration linear zur Glucosekonzentration im Perfusionsmedium. Thiopental bewirkte gegenüber den Kontrollen eine weitere signifikante Erhöhung der Glucosekonzentration im Gehirn. Diese Erhöhung war unabhängig von der im Medium vorliegenden Glucosekonzentration und betrug etwa $0,9 \mu\text{Mol/g}$ Gehirn (Feuchtwicht).

Die Konzentrationen von Lactat und Pyruvat bewegten sich bei allen Kontrollen in der gleichen Größenordnung. Die verschiedenen Glucosekonzentrationen im Medium schienen keinen Einfluß zu haben. Unter der Einwirkung von Thiopental fielen die Konzentrationen von Lactat und Pyruvat ab. Die Energiereserven wurden unter dem Einfluß von Thiopental erhöht.

Der Anstieg der Glucose und der gleichzeitige Abfall von Pyruvat und Lactat nach Thiopental weisen auf eine gebremste Glykolyse hin. Die Bremsung der Glykolyse scheint nicht durch eine Beeinflussung der Glucoseaufnahme in das Gehirn, sondern vielmehr über eine Hemmung der Aktivitäten von Hexokinase und Phosphofructokinase zu erfolgen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

ANDJUS, R.K., SUHARA, K., SLOVITER, H.A.: An isolated, perfused rat brain preparation, its spontaneous and stimulated activity. J.appl. Physiol. 22, 1033 - 1039 (1967)

BACHELARD, H.S.: Control of carbohydrate metabolism. In: Handbook of Neurochemistry, Edit. A.Lajtha, Vol IV, New York 1970, S. 1 - 12

BERGMEYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse. 2.Aufl. Weinheim 1970

BRODIE, B.B., MARK, L.C., PAPPER, E.M., LIEF, P.A., BERNSTEIN, E., ROVENSTINE, E.A.: The fate of thiopental in men and a method for its estimation in biological material.
J. Pharmacol. exp. Ther. 98, 85 - 95 (1950)

BRUNNER, E.A., PASSONNEAU, J.V., MOLSTAD, C.: The effect of volatile anaesthetics on levels of metabolites and on metabolic rate in brain. J. Neurochem. 18, 2301 - 2316 (1971)

FINK, B.R., HASCHKE, R.H.: Anesthetic effects on cerebral metabolism. *Anesthesiology* 39, 199-215 (1973)

FLECK, W., KRIEGLSTEIN, J., URBAN, W.: Zwei Apparaturen zur Perfusion des isolierten Rattenhirns. *Arzneimittel-Forsch.* 22, 1225 - 1230 (1972)

GRANHOLM, L., KAASIK, E., NILSSON, L., SIESJÖ, B.K.: The lactate/pyruvate ratios of cerebrospinal fluid of rats and cats related to the lactate/pyruvate, the ATP/ADP, and the phosphocreatine/creatine ratios of brain tissue. *Acta physiol. scand.* 74, 398 - 409 (1968)

GROWDON, W.A., BRATTON, M.C., HOUSTON, M.C., TARPLEY, H.L., REGEN, D.M.: Brain glucose metabolism in the intact mouse. *Am.J.Physiol.* 221, 1738 - 1745 (1971)

KIERSEY, D.K., BICKFORD, R.G., FAULCONER, A.: Electroencephalographic patterns produced by thiopentone sodium during surgical operations: description and classification. *Brit.J.Anaesth.* 23, 141 - 153 (1951)

KREBS, K.H., HENSELEIT, K.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 210, 33 - 66 (1932)

KRIEGLSTEIN, G., KRIEGLSTEIN, J., STOCK, R.: Suitability of the isolated perfused rat brain for studying effects on cerebral metabolism. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 275, 124 - 134 (1972)

KRIEGLSTEIN, J., STOCK, R.: Comparative study of the effects of chloral hydrate and trichloroethanol on cerebral metabolism. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 277, 323 - 332 (1973)

LEWIS, L.D., LJUNGGREN, B., NORBERG, K., SIESJÖ, B. K.: Changes in carbohydrate substrates, amino acids and ammonia in the brain during insulin-induced hypoglycemia, J.Neurochem. 23, 695 - 671 (1974)

LOWRY, O.H., PASSONNEAU, J.V., HASSELBERGER, F.X., SCHULZ, D.W.: Effect of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. J.biol.Chem. 239, 18 - 30 (1964)

NELSON, S.R., SCHULZ, D.W., PASSONNEAU, J.V.,
LOWRY, O.H.: Control of glycogen levels in brain.
J. Neurochem. 15, 1271 - 1279 (1968)

NILSSON, L., SIESJÖ, B.K.: The effect of anaesthetics upon labile phosphates and upon extra- and intracellular lactate, pyruvate and bicarbonate concentrations in the rat brain. Acta physiol. scand. 80, 235 - 248 (1970)

TABERNER, P.V.: Effects of gammahydroxybutyric acid and other hypnotics on glucose uptake in vivo and in vitro. J. Neurochem. 20, 669 - 680 (1973)

LEBENS LAUF

Am 12. Oktober 1948 wurde ich als erstes von zwei Kindern des Metzgers Hans Hein und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Andris, in Alzey (Rhein Hessen) geboren. Nach vier Jahren Volksschule wechselte ich in das Staatl. Neuspr. und Math. Naturwiss. Gymnasium in Alzey über. Dort legte ich im Anschluß an zwei Kurzschuljahre im Juni 1967 die Reifeprüfung ab.

Noch im gleichen Jahr zum Studium zugelassen, begann ich im Oktober 1967 mit dem Studium der Medizin an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz, das ich mit dem Staatsexamen im Juni 1973 abschloß.

Während der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich zunächst bis Februar 1974 am Pharmakologischen Institut der Universität Mainz. In dieser Zeit wurden die Experimente für die Dissertationsarbeit durchgeführt. Im Anschluß daran war ich fünf Monate auf der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Kirchheimbolanden tätig. Zur Zeit der Fertigstellung der Dissertationsarbeit arbeitete ich auf der Chirurgischen Abteilung der Diakonie-Anstalten in Bad Kreuznach.

